

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta
Katedra experimentální biologie rostlin

Chemie

Chemie a biologie se zaměřením na vzdělávání



Daniela Halamková

**Regulace tvorby laterálních kořenů v závislosti na dostupnosti
klíčových minerálních živin v prostředí**

Control of lateral root development in response to availability of principal mineral nutrients

Bakalářská práce

Vedoucí závěrečné práce: RNDr. Edita Tylová, Ph.D.

Konzultant: RNDr. Aleš Soukup, Ph.D.

Praha, 2011

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 5. 5. 2011

Podpis:

Poděkování

Chtěla bych poděkovat RNDr. Editě Tylové Ph.D. za velkou trpělivost, podporu, pomoc, cenné připomínka a postřehy při psaní mé bakalářské práce.

Za pomoc, cenné rady a postřehy bych ráda poděkovala RNDr. Aleši Soukupovi Ph.D.

Děkuji za příjemné prostředí, podporu a pomoc i dalším členům a studentům Katedry experimentální biologie rostlin.

Velké poděkování patří i mé mamince za její nesmírnou trpělivost a podporu při nejen při psaní této bakalářské práce.

Obsah:

OBSAH:	3
SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	4
ABSTRAKT	5
ABSTRACT	6
1 ÚVOD	7
2 POSTRANNÍ KOŘENY	8
2.1 VÝVOJ POSTRANNÍCH KOŘENŮ	8
2.2 MECHANISMUS REGULACE VZNIKU A VÝVOJE POSTRANNÍCH KOŘENŮ	12
3 FAKTORY PROSTŘEDÍ OVLIVŇUJÍCÍ MORFOLOGII KOŘENOVÉHO SYSTÉMU	14
4 MORFOLOGICKÉ ZMĚNY KOŘENOVÉHO SYSTÉMU V ZÁVISLOSTI NA DOSTUPNOSTI DUSÍKU V PROSTŘEDÍ	16
4.1 VÝZNAM NITRÁTU V MORFOGENEZI KOŘENOVÉHO SYSTÉMU	18
4.1.1 Význam nitrátu pro rostlinu a mechanismus příjmu	18
4.2 MORFOGENEZE KOŘENŮ V ODPOVĚDI NA VÝSKYT NITRÁTU V PROSTŘEDÍ	19
4.2.1 Lokalizovaná odpověď na dostupnost nitrátu	19
4.2.2 Role NRT1.1	21
4.2.3 Systémová odpověď na vysokou koncentraci nitrátu	22
5 VÝZNAM DALŠÍCH FOREM DUSÍKU PRO MORFOGENEZI KOŘENOVÉHO SYSTÉMU	24
5.1 AMONNÝ KATIONT	24
5.2 AMINOKYSELINY	24
6 INTERAKCE MEZI SIGNÁLY VYVOLANÝMI NITRÁTEM A GLUTAMÁTEM	26
7 MORFOLOGICKÉ ZMĚNY KOŘENOVÉHO SYSTÉMU V ZÁVISLOSTI NA DOSTUPNOSTI FOSFÁTU V PROSTŘEDÍ	27
7.1 VÝZNAM FOSFORU PRO ROSTLINU A MECHANISMUS PŘÍJMU	27
7.2 ZMĚNY MORFOGENEZE KOŘENOVÉHO SYSTÉMU V ODPOVĚDI NA NEDOSTATEK FOSFORU	28
7.2.1 Systémová odpověď	28
7.3 ROZDÍLNÝ VLIV NITRÁTU A FOSFÁTU NA MORFOLOGII KOŘENOVÉHO SYSTÉMU:	30
8 ZÁVĚR	31
9 POUŽITÁ LITERATURA	31

Seznam použitých zkratek

ABA	kyselina abscisová
ACC	prekurzor etylénu
BR	brassinosteroidy
EPBS	enzymy účastníci se přestavby buněčné stěny
Glu	glutamát
HATS	vysokoafinitní systém příjmu nitrátu
IAA	kyselina indolyl-3- octová
IL	vnitřní vrstva buněk primordia postranních kořenů
KV	kořenové vlásky
LATS	nízkoafinitní systém příjmu dusíku
MiRNA	micro RNA, malé nekódující RNA
OL	vnější vrstva buněk primordia postranních kořenů
PK	postranní kořen/y
PPK	primordium postranního kořene

Abstrakt

Postranní kořeny jsou složkou kořenového systému, která má díky velikosti svého absorpčního povrchu zásadní význam v příjmu živin a vody rostlinou. Jejich vývoj plasticky reaguje na heterogenitu půdního prostředí, což rostlině umožňuje optimalizovat příjem v závislosti na aktuálních podmínkách. Jedním z klíčových faktorů determinujících morfogenezi kořenového systému je dostupnost klíčových minerálních živin (typ živiny, forma, rozmístění v půdě, pohyblivost). Roli hraje také množství dané živiny v rostlině, respektive aktuální poptávka rostliny po daném prvku. Mezi nejdůležitější minerální živiny ovlivňující architekturu kořenového systému patří dva makroprvky - dusík a fosfor. U obou těchto prvků byl pozorován jak negativní, tak i pozitivní vliv na vývoj a růst postranních kořenů.

Významný zdroj dusíku představuje nitrát, který může vyvolat v rostlině dva zcela odlišné regulační mechanismy vývoje postranních kořenů. Při limitujícím množství nitrátu v půdě navodí lokálně zvýšené množství nitrátu lokální stimulační efekt, při němž dochází k prodlužování postranních kořenů v oblasti výskytu uvedené formy dusíku. Při tomto efektu bylo pozorováno propojení signálních drah auxinu a nitrátu.

Vysoký obsah nitrátu v půdě (≥ 10 mM), který je navíc rovnoměrně rozmístěný, vede k inhibici tvorby postranních kořenů. Jedná se o systémový inhibiční efekt, který byl podobně pozorován i v případě amonného iontu. Vývoj postranních kořenů významně ovlivňuje také glutamát.

I v případě fosforu byl pozorován efekt na tvorbu postranních kořenů. Při nedostatku fosforu se zvyšuje citlivost kořenů vůči auxinu, výsledkem je zpomalení růstu hlavní osy kořene versus stimulace růstu postranních kořenů.

Klíčová slova: fosfát, lokální stimulační efekt, nitrát, postranní kořeny, systémový inhibiční efekt

Abstract

Lateral roots are, due to their large absorption surface, a part of the root system with significant importance for the plant's ingestion of water and nutrients. Their development depends on heterogeneity of soil environment, which enables the plant to optimize the acquisition of resources under current conditions. The availability of mineral nutrients (type of nutrient, form, distribution in soil and mobility) is one of key factors that determine root system morphogenesis. Another important aspect is the amount of nutrient in the plant; in other words, the plant's current demand for the element. The most important nutrients that influence the architecture of the root system are two macroelements – nitrogen and phosphorus. Both of these elements trigger positive and negative effects on the development of lateral roots.

Nitrate, important source of nitrogen, induces two entirely different regulatory mechanisms of lateral root development. Under nitrogen limiting condition, a local stimulation of lateral root elongation is triggered in nitrate-rich patches. This response integrates the signalling pathways of auxin and nitrate.

In contrast, high and homogenous availability of nitrate in rhizosphere (≥ 10 mM) causes inhibition of lateral root growth. This systemic inhibitory effect was similarly observed with ammonium ions as a nitrogen source. Another N-rich compound with significant potential to affect lateral root growth is glutamate.

In the case of phosphorus, an effect on the growth of lateral roots was also observed. Phosphorus deficiency increases root sensitivity towards auxin, which suppresses growth of the main root axis and stimulates the growth of lateral roots.

Key words: lateral root, local stimulatory effect, nitrate, phosphate, systemic inhibitory effect

1 Úvod

Rostliny, jako přisedlé organismy, nemohou za zdrojem živin cestovat. Musí účinně využít svoje přirozené prostředí výskytu k získání dostatečného množství vody a živin. Plasticita růstu a vývoje v odpovědi na vnější podmínky je proto nezbytnou podmínkou existence jedince. Interakce zprostředkované kořeny poskytující rostlině možnost adaptovat se na různou kvalitu a heterogenitu půdy. Kořenový systém rostlin představuje velice dynamickou strukturu. Růst hlavního kořene a jeho větvení se neustále přizpůsobuje různým přírodním podmínkám jako dostupnosti živin, provzdušnění půdy, vlhkosti či salinitě půdy (viz. shrnutí Benkova & Bielach 2010).

Za produkci nových buněk je odpovědný apikální meristém. Kořenový systém se skládá z hlavního kořene, který má základ v radikule embrya. Až postembryonálně dává rostoucí kořen vzniknout postranním (laterálním) kořenům prvního řádu, jejichž dalším větvením vznikají postranní kořeny druhého a vyšších řádů. V závislosti na rostlinném druhu mohou na různých orgánech vznikat adventivní kořeny, které se mohou tvořit spontánně nebo vznikají jen za určitých podmínek – např. po porušení korelací mezi orgány, při poškození rostliny nebo při změně podmínek v prostředí. Ve zralém embryu trav se kromě radikuly vyskytuje různý počet základů těchto adventivních kořenů. Adventivní kořeny, které se vyskytují již v embryu, se označují jako seminální adventivní kořeny.

Morfologie kořenového systému je velmi rozmanitá. Jeho základní uspořádání je dáno nejen geneticky, ale je také ovlivněno prostředím, kterému se rostlina musí přizpůsobit, aby mohla přežít. Každá rostlina tak na základě podnětů z prostředí může dát vzniknout kořenům novým, nebo naopak pozastavit růst kořenů již existujících. Tato dynamická vývojová strategie poskytuje nepohyblivým rostlinám zřetelné výhody. Základní příklad této vývojové plasticity představuje utváření postranních kořenů v rámci kořenového systému (Malamy & Ryan 2001).

Zvětšování kořenové soustavy tvorbou postranních kořenů se rozšiřuje oblast půdy poskytující živiny a vodu (Malamy 2005). Rostliny se zároveň chovají ekonomicky (Bloom et al. 1985). Růst kořene jako heterotrofního orgánu je spojen s investicemi v podobě asimilátů. Rostliny proto budují pouze natolik rozvinutý kořenový systém, který v aktuálních podmínkách postačuje pro příjem potřebného množství živin a vody.

Samozřejmě, že i tvorba postranních kořenů je ovlivněna různými přírodními podmínkami – např. hustotou a kompaktností půdy, její salinitou, typem půdních částic, dostupností vody,

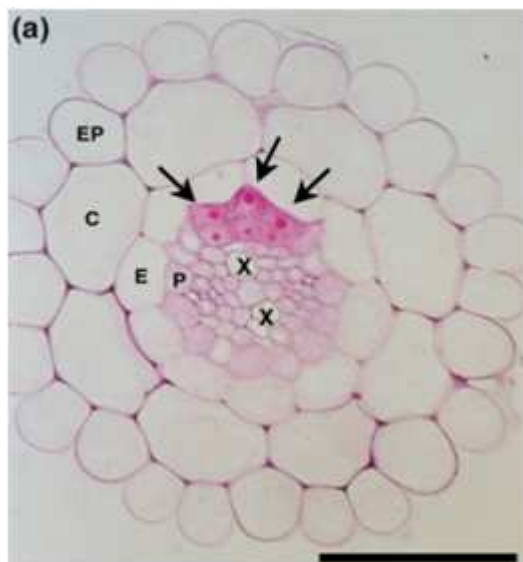
efekty sekundárních rostlinných metabolitů, zvířaty a mikroorganismy a interakcemi s nimi, ale také heterogenním složením půdy z hlediska dostupnosti minerálních živin (Malamy 2005). Nitrát a fosfát představují dvě hlavní formy živin, u nichž je dobře popsán vliv na formování kořenového systému, především na vývoj laterálních kořenů (Linkohr et al. 2002). Rostliny mají vyvinuté mechanismy, kterými vnímají množství živin v půdě a zároveň reagují na obsah dané živiny v jejich vlastním těle. Na základě těchto informací se musí rozhodnout, zda spustí iniciaci postranních kořenů (Malamy et al. 2001). Nitrát, stejně tak fosfát, může mít, na základě svojí různé dostupnosti a rozmístění, pozitivní i negativní vliv na vývoj a růst postranních kořenů (Zhang et al. 1999). V rostlinném těle pak dochází ke spuštění různých mechanismů a signálních drah, jejichž výsledkem je konečná podoba kořenového systému v podmínkách daných prostředím, v kterém rostlina žije.

2 Postranní kořeny

2.1 Vývoj postranních kořenů

Postranní kořeny (dále PK) se zakládají endogenně. V případě krytosemenných rostlin vznikají z buněk pericyklu, který se nachází uvnitř pletiv mateřského kořene. U kapradin se PK tvoří z endodermis (Essau 1953).

Vznik PK je poměrně dobře popsán na modelovém rostlinném organismu *Arabidopsis*



Obr. 1: Příčný řez hlavním kořenem *Arabidopsis* ukazující tři radiálně rozšířené buňky pericyklu po dělení. Vysvětlivky: C – kůra, E – endodermis, EP – epidermis, P – pericykl, X – xylém. (Casimiro et al., 2003)

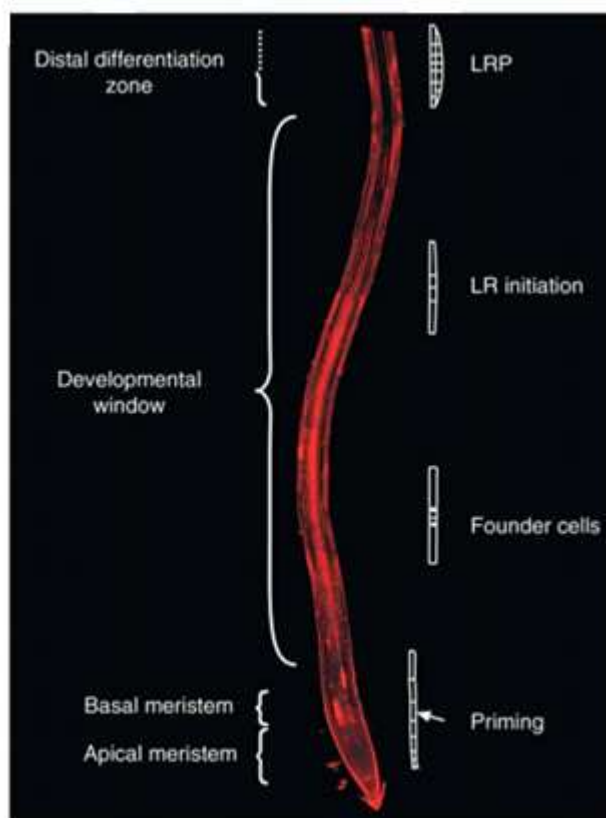
thaliana. Výhodou tohoto druhu je jeho poměrně jednoduchá stavba kořene, který je složen pouze z jedné vrstvy buněk epidermis, kůry a endodermis a dále středním válcem s vodivými pletivy (**viz obr. č. 1**) (Casimiro et al. 2003). U *Arabidopsis* je klíčová dostupnost široké škály mutantů poskytujících nástroj pro studium signálních procesů (Zhang et al. 1999). Výhodou je i malý vzrůst rostliny, který umožňuje její pěstování v Petriho miskách, a krátká vegetační doba. Většina studií týkající se (nejen) vývoje PK používá tedy právě tuto rostlinu jako modelový organismus.

První událost související se vznikem postranních kořenů, které vznikají v akropetální sekvenci a jejichž iniciace nastává v pravidelném rytmu v průběhu vývoje mateřského kořene, je priming, při němž buňky pericyklu sousedící s xylémem procházejí preiniciační událostí, která je závislá na signalizační dráze auxinu. Perioda mezi zahájeními vývoje jednotlivých PK trvá stejnou dobu, jako perioda, při níž dochází k výskytu maxim auxinu v daném místě kořene. Jedná se o časový úsek dlouhý přibližně 15 hodin. Opakování výskytu maxim zmíněného fytohormonu je částečně způsobeno výkyvy v přerozdělování auxinu uvnitř kořenového vrcholu, které jsou vyvolané gravitropismem (De Smet et al. 2007). Priming nastává v oblasti basálního meristému kořene (**viz obr. č. 2**). Tedy v distální části apikálního meristému před přechodovou a prodlužovací zónou kořene, kde dochází k dělení buněk (viz. shrnutí Peret et al. 2009).

Buňky, které projdou výše popsanou preiniciační událostí závislou na auxinu a prvním buněčným dělením, se stávají buňkami zakladatelskými. Dubrovsky (Dubrovsky et al. 2001) používá termín zakladatelské buňky (founder cell) k označení takových buněk, které získávají vývojový osud odlišný od jejich mateřské buňky, a které hrají důležitou roli v první fázi tvorby PK.

Jak již bylo uvedeno, u mnoha rostlinných druhů se tvoří PK, tedy i zakladatelské buňky, z buněk pericyklu přilehlých k buňkám xylému (ovšem u *Zea mays* a *Daucus carota* vznikají PK z buněk pericyklu sousedících s floémem) (viz. shrnutí Casimiro et al. 2003).

Pericykl představuje heterogenní tkáň tvořenou buňkami sousedícími s floémem, u kterých nedochází k buněčnému dělení, a buňkami schopnými tvořit primordia postranních kořenů nacházející se u xylémových buněk (Parizot et al. 2008). Ačkoliv xylémové a floémové buňky pericyklu se liší v mnoha morfologických znacích např.



Obr č. 2 : Časová a prostorová kontrola organogeneze PK v hlavním kořeni (Benkova and Bielach, 2010).

v ultrastruktuře (Parizot et al. 2008), distribuci arabinogalaktanového proteinu (Casero et al. 1998), velikosti buňky či tloušťce buněčné stěny (Dolan & Roberts 1995), tak rozhodující činitel podmiňující xylémovou oblast buněk pericyklu k schopnosti vzniku zakladatelských buněk není stále znám. Analýza exprese řady klíčových regulačních genů buněčného cyklu naznačuje, že buňky pericyklu sousedící s floémem zůstávají v G1 fázi a dále tedy nepodléhají buněčnému dělení. Zatímco buňky v sousedství xylému mohou přecházet přes S fázi až do G2 fáze. Buňky pericyklu sousedící s xylémem jsou náchylnější k tvorbě primordia postranních kořenů (dále PPK) zřejmě hned ze dvou důvodů. V případě těchto buněk dochází ke kompletní syntéze DNA a buňky se nacházejí ve fázi buněčného cyklu bezprostředně předcházející fázi mitotického dělení. Pouze některé z buněk nacházejících se v G2 fázi dají vzniknout PPK. V této fázi je důležitý protein ALF4, který je specifický pro rostlinou říši a který je nezbytný pro udržení schopnosti buněk pericyklu sousedících s xylémem vstoupit do mitotické části buněčného cyklu (DiDonato et al. 2004). Významnou roli při časně fázi formování PPK hraje fytohormon auxin (Beeckman et al. 2001). Auxin zasahuje do buněčného cyklu, konkrétně podporuje přechod buněk z G1 do S fáze (Himanen et al. 2002).

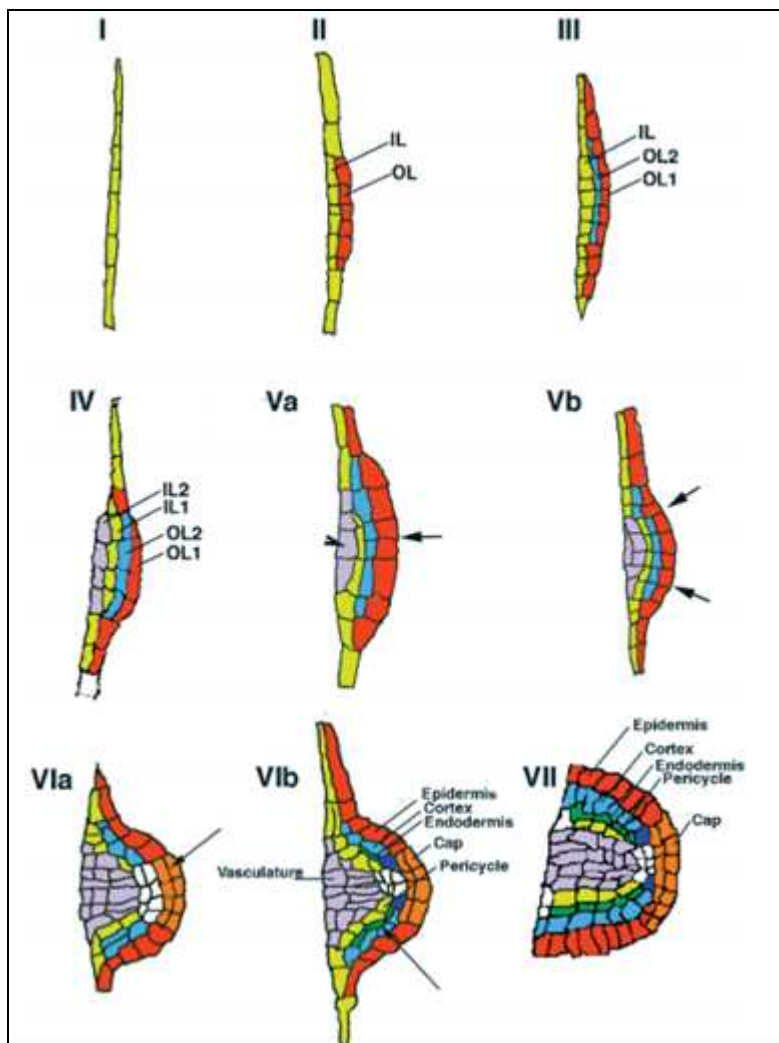
Pouze z malého počtu buněk pericyklu se stávají po asymetrickém dělení zakládající buňky, které dávají vzniknout prvním vývojovým fázím primordií postranního kořene (viz. shrnutí (Benkova et al. 2010).

PPK představuje mnohvrstevnou buněčnou strukturu, která dá vzniknout všem buněčným vrstvám vyskytujícím se v dospělém kořeni (Malamy & Benfey 1997).

K iniciaci PPK dochází v oblasti hlavního kořene, kde dochází zároveň k diferenciaci endodermis a vodivých pletiv rostliny (viz. shrnutí Benkova et al. 2010).

Dubrovsky et al.(Dubrovsky et al. 2001) popisuje dva typy iniciace PPK u *Arabidopsis thaliana* - podélný dvoubuněčný, při němž dochází k asymetrickému dělení dvou sousedících zakladatelských buněk najednou a který byl nalezen i u dalších rostlinných druhů, a podélný jednobuněčný. Během něhož jediná buňka pericyklu dává vzniknout PPK v celém jeho podélném rozsahu.

Vývoj PPK rozdělili Malamy a Benfey (Malamy et al. 1997) do osmi stádií (**viz obr. č. 3**).



Obr. č. 3: Model vývoje PPK u *Arabidopsis thaliana* znázorňující jednotlivá stádia I – VII (Malamy et al. 1997).

Charakteristika jednotlivých stádií:

1. Pomocí několika antiklinálních dělení vzniká přibližně 8 až 10 „krátkých“ buněk pericyklu. Můžeme tak pozorovat první důkaz iniciace PPK a to ve svislém směru k ose hlavního kořene.
2. Periklinální dělení rozštěpí PPK na vnější (outer layer, OL) a vnitřní vrstvu (inner layer, IL). Vzhledem k tomu, že hlavně okrajové buňky neprochází tímto dělením, tak v důsledku radiální expanze OL a IL vzniká klenutý tvar PPK.
3. OL se dělí periklinálně a tak vzniká primordium tvořené třemi vrstvami – OL1, OL2 a IL. Některé krajní buňky se stále nedělí.
4. Dochází k periklinálnímu dělení i vnitřní vrstvy. PPK tak již obsahuje celkem čtyři vrstvy:

OL1, OL2, IL1, IL2. PPK již proniklo vrstvou endodermis.

5. Centrální buňky vrstev OL1 a OL2 se dělí antiklinálně a vytvoří tak čtyři malé kvádrovité buňky. Dělí se i buňky sousedící s centrálními buňkami. Buňky ve vrstvě IL2 se prodlužují, dělí a tlačí vrstvy nad sebou nahoru. V tomto stádiu se PPK nachází uprostřed kůry mateřského kořene.
6. V této fázi vývoje dochází k několika událostem najednou. Vrstva OL2 prochází periklinálním dělením a dává vzniknout další vnitřní vrstvě OL2a. Čtyři centrální buňky vrstvy OL1 se dělí stejným způsobem jako buňky ve vrstvě OL2. PPK prošlo kůrou kořene a prorazilo epidermis. Buňky ve středu PPK, vzniklé z vrstvy IL2, mají protáhlý tvar charakteristický pro cévní elementy.
7. PPK se začíná podobat dospělé kořenové špičce. Obsahuje 3 vrstvy odpovídající epidermis, kůře a endodermis. Je zde naznačen i základ vodivých pletiv.
8. Mnoho buněk prochází opět antiklinálním dělením. PPK se vynořilo na povrch mateřského kořene.

Meristém neboli dělivé pletivo specializované pro tvorbu nových buněk je ustanoveno v postranních kořenech už v průběhu vývoje PPK. Meristematicky aktivní buňky, označované jako iniciály, dávají svým dělením vzniknout jak buňkám dceřiným, které zůstanou iniciálami, tak buňkám konkrétních pletiv (Malamy et al. 1997). Během časných stádií vývoje

PPK se tak již ustanovuje příslušnost jednotlivých buněk ke konkrétním buněčným typům, tj. pro jakou funkci se bude buňka diferencovat v pozdějších fázích vývoje PK. Shluk buněk nacházející se pod vrcholem pozdních fází PPK tvoří klidové centrum nově vzniklého apikálního meristému (Malamy et al. 1997). Jedná se o skupinu málokdy se dělicích buněk, zůstávajících dlouho ve fázi G1. Kolem tohoto centra se nacházejí intenzivně se dělící buňky.

Vnější pletiva mateřského kořene (endodermis, primární kůra a epidermis) sice představují překážku, kterou musí PPK projít, což ovšem neznamena, že jsou během vynořování PPK pasivní. Například u mnoha dvouděložných rostlin buňky endodermis, sousedící s PPK, procházejí různými typy dělení. Nově vytvořené buňky však už netvoří Casparyho proužky, což pravděpodobně ulehčuje dělení PPK. U *Allium cepa* a *Glycine max* bylo pozorováno i dělení buněk kůry. Předpokládá se, že malé buňky či buňky s radiálními buněčnými stěnami ulehčují vynoření primordia (Peret et al. 2009). Navíc se zdá, že buňky z vnějšku primordia mohou být do něho inkorporovány a podílet se na tvorbě pletiv PK. V případě *Cucurbita maxima* endodermis přispívá k tvorbě kůry, epidermis, čepičky a vodivých pletiv PK (Peret et al. 2009).

Při prorůstání PPK skrze jednotlivé vnitřní vrstvy kořene hraje významnou roli auxin a enzymy účastníci se přestavby buněčné stěny (dále EPBS) (Laskowski et al. 2006). Tyto enzymy způsobují oddělení buněk ve vrstvách nad vynořujícím se PPK, kde jsou exprimovány. Auxin tvořící se ve vznikajícím PPK, vyvolá expresi EPBS v přilehlých buňkách endodermis a expresi auxinového přenašeče LAX3 v buňkách primární kůry přilehlých k tvořícímu se PPK. LAX3 zvyšuje propustnost buněk pro auxin. Zvýšený obsah auxinu pak vede k expresi EPBS v buňkách primární kůry. V pozdějším stádiu vývoje PPK vyvolává auxin expresi LAX3 i v přilehlých buňkách epidermis. Přítomnost EPBS v různých vrstvách kořene pomáhá vyvíjejícímu se PPK při jeho vynořování z mateřského kořene tím, že od sebe oddělují buňky, překrývající vyvíjející se PPK, štěpením pektinu ve střední lamelle (Swarup et al. 2008).

2.2 Mechanismus regulace vzniku a vývoje postranních kořenů

Tvorba postranních kořenů je proces regulovaný podmínkami prostředí a rostlinnými hormony. Mezi hormony hraje klíčovou roli auxin (Fukaki & Tasaka 2009).

Slovo auxin se obecně používá pro označení skupiny důležitých molekul nacházejících se nejen v rostlinách, ale také v mikroorganismech, zvířatech a lidském těle. U rostlin převládá ze všech „auxinových“ molekul molekula kyseliny indolyl-3-octové (dále IAA). Zároveň se

jedná o významný hormon zapojený do mnoha vývojových procesů v rostlinném těle (Teale et al. 2006). Biosyntéza IAA probíhá v mladých, rychle se dělících buňkách – tedy hlavně v meristémech a embryu. Auxin syntetizovaný v nadzemní části je transportován do kořenů buď floémem, nebo pomocí polárního transportu, při kterém dochází ke směrovanému toku hormonu takzvaně „z buňky do buňky“, na kterém se podílejí specifické přítokové (AUX1/LAX) a výtokové (PIN) nosiče (Friml 2003). Při vynoření PK z mateřského kořene hrají určitou roli i přenašeče auxinu – AUX1 a LAX3. Přenašeč AUX1 je permeáza lokalizovaná na bazální straně protofloémových buněk kořene, kde zprostředkovává transport auxinu do buňky a podporuje tak akropetální transport IAA. LAX3 představuje auxinový přítokový přenašeč, který je homologický k přenašeči AUX1 (LAX - like AUX) (Swarup et al. 2008; Swarup et al. 2001). Polární transport se odehrává v buňkách parenchymu v blízkosti cévních svazků. Transport z nadzemní části do kořenů vyvolává gradient auxinu v rostlině, který umožňuje regulaci řady adaptačních procesů zahrnujících tvorbu nových orgánů, tropismus, změny v aktivitě meristémů (Friml 2003). U velmi mladých semenáčků *Arabidopsis* hraje při vynoření PK roli auxin syntetizovaný v nadzemních částech rostliny, především ve vyvíjejících se listech. V případě starších rostlin (asi 7 až 10 dní po vyklíčení) se k tomuto nadzemnímu zdroji připojuje auxin vznikající v meristému hlavního kořene. Nadzemní části rostliny však stále zůstávají hlavním zdrojem auxinu pro kořenový systém (Ljung et al. 2005).

Jak již bylo výše částečně zmíněno, auxin je významný pro iniciaci vzniku primordia PK i jeho další vývoj. Vnější aplikace auxinu vyvolává zvýšení počtu PK, zatímco po přerušení auxinového transportu klesá množství nově vytvořených PK (Bhalerao et al. 2002; Reed et al. 1998). Vznik auxinového maxima je instruktivní pro vznik a další vývoj PPK (Benkova et al. 2003; Dubrovsky et al. 2008). Auxin se akumuluje v místě vzniku primordia. Buňky pericyklu se zvýšeným obsahem tohoto hormonu se stávají buňkami zakladatelskými, dochází k aktivaci buněčného dělení a vzniku PPK (viz. shrnutí Benkova et al. 2010). V dalších fázích vývoje se gradient tohoto hormonu ustanovuje ve vrcholu vyvíjejícího se postranního kořene. Směr toku auxinu je dán přítomností PIN proteinů – výtokových přenašečů auxinu, které během vývoje PPK mění svoji pozici v membránách buněk, a to z antiklinální stěny membrány buněk během iniciace PK na periklinální stěny buněk směřující ke špičce primordia (Benkova et al. 2003).

Během vývoje PK dochází ke směrovanému toku auxinu, nejdříve se auxin pohybuje vnitřní částí primordia směrem k jeho špičce (akropetální transport – od báze ke špičce

kořene), poté je odváděn pryč vnější vrstvou buněk vyvíjejícího se primordia (bazipetální transport - od špičky k bázi kořene). Daný model toku auxinu se označuje jako fontánový (Benkova et al. 2003).

Odpovědi vyvolané auxinem jsou regulovány dvěma rodinami proteinů: ARFs (auxin response factors) a AUX/IAA. ARF představují aktivátory/represory transkripce genů reagujících na auxin. AUX/IAA proteiny jsou represory odpovědí vyvolaných tímto fytohormonem, které vážou ARF a zabraňují jim v jejich transkripční aktivitě. Auxin aktivuje transkripci tak, že vyvolá degradaci AUX/IAA represoru, tím umožní ARF regulovat expresi genů reagujících na auxin, které jsou zapojeny do růstových a vývojových odpovědí. Represor AUX/IAA je označen působením ubiquitin protein ligázy SCF^{TIR21} k degradaci proteozómem (Dharmasiri & Estelle 2004).

Růst a vývoj postranních kořenů ovlivňují kromě auxinu také další rostlinné hormony. Jsou jimi např. cytokininy, ABA, brassinosteroidy, gibbereliny nebo etylén. Cytokininy inhibují tvorbu PK tak, že ovlivňují prostorovou expresi několika PIN genů v PPK a tak brání vytvoření auxinového gradientu potřebného pro další správný vývoj PPK (Kuderova et al. 2008; Laplace et al. 2007).

Kyselina abscisová (dále ABA) potlačuje iniciaci PK. Brassinosteroidy (dále BR), společně s auxinem, podporují tvorbu PK. Konkrétně BR podporují akropetální transport auxinu v kořeni. Interakce mezi auxinem a BR se předpokládá i u mnoha dvouděložných rostlin, pozorována byla např. u hrachu (Bao et al. 2004).

Role gibberelinů při tvorbě PK ještě nebyla detailně prozkoumána, ale existují důkazy týkající se zapojení tohoto hormonu do formování postranních kořenů (Fukaki et al. 2009).

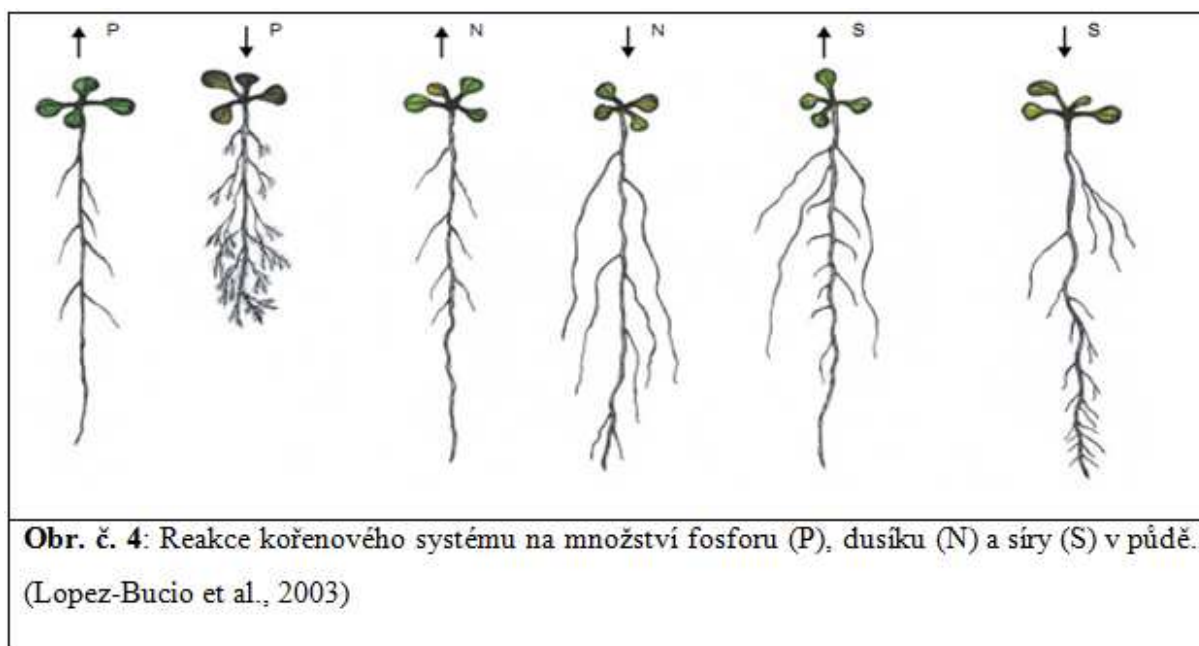
Ani v případě etylénu nebyl dopodrobna prozkoumán jeho efekt na tvorbu postranních kořenů. Vnější aplikace vyšší koncentrace prekursoru syntézy etylénu (ACC) zapříčinila inhibici iniciace PK, ale podpořila vynoření již existujícího PPK. Při nízké exogenní koncentraci ACC nebyla inhibice tvorby PPK pozorována (Ivanchenko et al. 2008).

3 Faktory prostředí ovlivňující morfologii kořenového systému

Uspořádání kořenového systému je ovlivněno mnoha abiotickými i biotickými faktory. Změny v morfologii zahrnují inhibici/stimulaci růstu hlavního kořene nebo postranních kořenů, zvyšování množství kořenových vlásků nebo tvorbou adventivních kořenů (Osmont et al. 2007). Mezi abiotické činitele patří dostupnost vody a možnost jejího příjmu v souvislosti s osmotickým potenciálem. Deak a Malamy (Deak & Malamy 2005) popsali u *Arabidopsis*

zpomalené vynořování primordií při nedostatku vody. Inicie vzniku primordií nebyla negativně ovlivněna, primordia nevykazovala morfologické abnormality, pouze byla zpomalena jejich přeměna v autonomně rostoucí postranní kořeny. *Arabidopsis* zřejmě prostřednictvím tohoto mechanismu optimalizuje svůj kořenový systém. Potlačuje růstu svých kořenů v oblastech s menší dostupností vody, současně si však ponechává růstový potenciál pro případ náhlého zlepšení podmínek. Pomalu se vyvíjející PPK mohou být v případě potřeby schopny rychle reagovat na výskyt vody v půdě obnovením intenzivního růstu (Deak et al. 2005).

Vedle vody patří mezi důležité abiotické faktory dostupnost živin. Největší efekt na architekturu kořenového systému mají mezi různými živinami dva makroprvky, které v přirozených podmínkách často limitují růst – dusík (N) a fosfor (P). Význam těchto živin v regulaci morfogeneze kořenového systému bude podrobně popsán v následující části práce. Důležitou roli hraje i sulfát a železo (**obr. č. 4**) (viz. shrnutí Lopez-Bucio et al. 2003).



V případě růstu *Arabidopsis* na agaru dobře zásobeným sulfátem (SO_4^{2-}) dochází k prodlužování hlavního kořene a vývoji PK v určité vzdálenosti od kořenové špičky. Naopak v případě, kdy rostliny trpí nedostatkem SO_4^{2-} , dochází k formování PK v blízkosti kořenové špičky a to ve zvýšené hustotě (viz. shrnutí (Lopez-Bucio et al. 2003)).

Malá dostupnost železa vyvolává morfologické změny v epidermálních buňkách kořene, dochází tedy ke zvýšené tvorbě kořenových vlásků a jejich prodlužování. Kořenové vlásky (dále KV) se nacházejí v místech, kde za normálních podmínek nerostou. Deficit fosforu a

železa má podobný účinek na hustotu výskytu KV, ovšem tyto změny v morfologii KV jsou zprostředkované různými cestami. V případě nízké koncentrace železa v půdě hraje důležitou roli etylén. Při nízké koncentraci fosforu tomu tak není (viz. shrnutí Lopez-Bucio et al. 2003).

4 Morfologické změny kořenového systému v závislosti na dostupnosti dusíku v prostředí

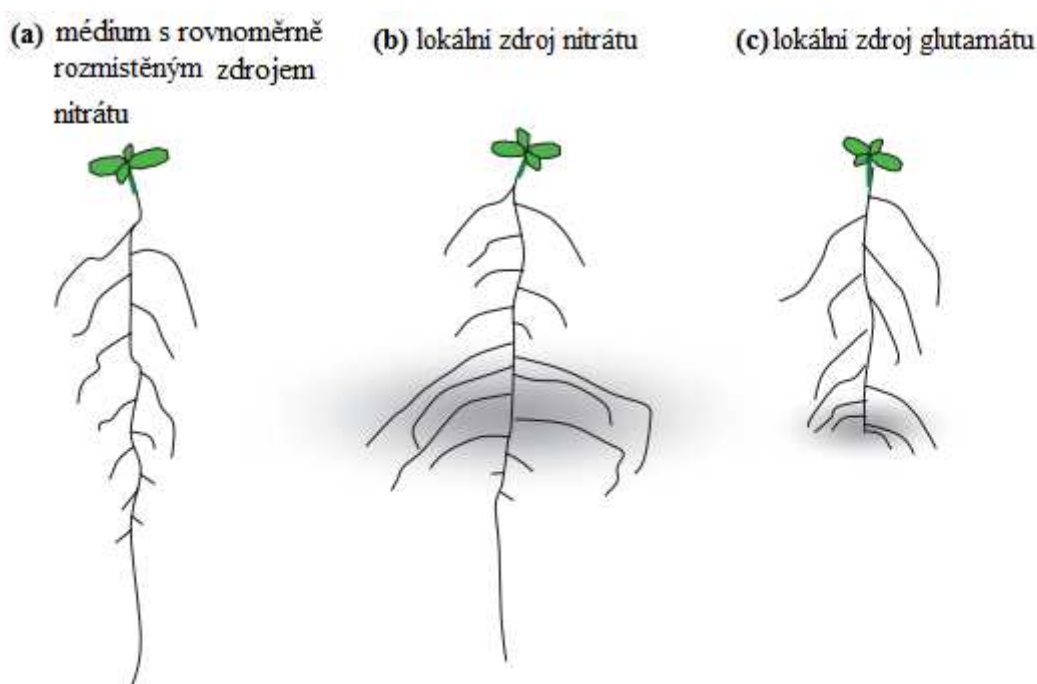
Hlavními zdroji dusíku jsou amonný iont a nitrát (viz. shrnutí Osmont et al. 2007). Další zdroje představují organické formy, především aminokyseliny. Často půda obsahuje aminokyseliny v množstvích, které lze srovnat s obsahem anorganických zdrojů dusíku. Aminokyseliny se dostávají do půdy především během hydrolýzy proteinů (Näsholm et al. 2009).

Nejhojnějším zdrojem dusíku pro rostlinu je obvykle nitrát (viz. shrnutí Krouk et al. 2010a). Aniontová forma nitrátu je lehce rozpustná v půdní vodě, což mu dodává velkou pohyblivost skrze půdní profil. Nitrát vzniká oxidací amonného iontu působením nitrifikačních bakterií. Při nedostatku kyslíku je naopak substrátem pro denitrifikaci, během které jej denitrifikační bakterie převedou na plynný dusík N_2 . Koncentrace nitrátu v půdě tak závisí na srážkách, pH, teplotě a koncentraci kyslíku (Miller et al. 2007)

Již dlouho je známo, že rostlina reaguje na dostupnost živin v prostředí změnou celkového uspořádání svého těla – dochází ke změně distribuce biomasy mezi nadzemní a podzemní část, tj. změně poměru R/S (root/shoot) (Marschner et al. 1996). Thornley (Thornley 1972) navrhl jednoduchý model, v němž je růst rostliny závislý na toku uhlíku z výhonku do kořenů prostřednictvím floému a toku dusíku z kořenů do nadzemní části rostliny pomocí xylému. Přičemž tok uvedených látek je závislý na jejich koncentracích. Pokud rostlina obsahuje hodně dusíku, pak upřednostňuje investice do nadzemní části. V případě dostatečného zásobení uhlíkem a menšího obsahu dusíku, pak dochází k rozvoji kořenového systému. Rozvoj kořenového systému při nedostatku dusíku v prostředí (Marschner et al. 1996) není způsoben pouze transportem sacharózy z nadzemní části rostliny, ale také transportem dusíku stejným směrem. Tento tok dusíku převyší proud této živiny opačným směrem, tedy z kořene do výhonku (Peuke et al. 1994).

V nedávné době byly kromě tohoto systémového efektu popsány další mechanismy regulace. Především schopnost rostliny reagovat na lokalizovanou nabídku dusíku v prostředí. V současné době je popsáno několik mechanismů regulujících morfogenezi kořenového systému v závislosti na dostupnosti a distribuci dusíku v okolí rostliny. Jedná se o dva odlišné

efekty vyvolané přítomností nitrátů (lokální stimulační versus systémový inhibiční efekt) a změnu morfologie způsobenou přítomností glutamátu (dále Glu). Tyto mechanismy ovlivňují různé fáze vývoje kořenového systému a mají svoje ekofyziologické opodstatnění. Vysoká koncentrace nitrátu inhibuje rozvoj postranních kořenů v situaci, kdy není rostlina nitrátem limitována. Naopak stimulace rozvoje postranních kořenů v oblasti s lokálně zvýšenou koncentrací nitrátu v podmínkách jeho nedostatku umožní rostlině optimálně využít přítomný zdroj. Morfogenní efekt Glu (zastavení růstu hlavního kořene a stimulace větvení) je optimalizací kořenového systému pro využití v půdě málo pohyblivého zdroje dusíku ve formě aminokyselin (**viz obr. č. 5**).



Obr. č. 5: Odlišné reakce kořenového systému *Arabidopsis* na různé zdroje dusíku. Kresby znázorňují růstové odpovědi při růstu rostliny v: a) médiu s rovnoměrně rozmístěným zdrojem nitrátu b) médiu s lokálně zvýšeným obsahem nitrátu a c) médiu s lokálním zdrojem glutamátu a bez nadbytečného množství nitrátu. (Forde and Walch-Liu, 2009)

4.1 Význam nitrátu v morfogenezi kořenového systému

4.1.1 Význam nitrátu pro rostlinu a mechanismus příjmu

Nitrát představuje nejen hlavní zdroj dusíku pro rostliny, ale také signální molekulu, která způsobuje morfologické změny v rostlině a pozměňuje její metabolismus. Bylo identifikováno přes 40 genů indukovaných nitrátem, z nichž většina kóduje enzymy metabolismu dusíku a uhlíku. NO_3^- je v rostlině asimilován. Nezbytné uhlíkaté sloučeniny, energii a redukční ekvivalenty pro vstřebání a zpracování nitrátu poskytuje metabolismus sacharidů a fotosyntéza. Zvýšená dostupnost nitrátu obecně stimuluje jeho asimilaci a posunuje rovnováhu metabolismu uhlíku a dusíku ve prospěch N. V rostlině je NO_3^- redukován na NH_4^+ nitrát reduktázou a nitrit reduktázou. Redukce probíhá v kořenech nebo nadzemní části, kam může být NO_3^- transportován xylémem. Pokud je v rostlině přebytek nitrátu, pak může být skladován ve vakuolách a částečně může být uvolněn zpět do půdy (viz. shrnutí Marschner 1995). Dostatečné množství dusíku v rostlině vede k potlačení jeho příjmu, naopak nedostatek dusíku vyvolává efekt přesně opačný (Krouk et al. 2006).

Příjem nitrátu kořeny je aktivní proces probíhající přes plasmatickou membránu buněk rhizodermis a primární kůry kořene, poháněný gradientem H^+ a zajišťovaný dvěma skupinami transportérů, které se liší kinetickými parametry (především afinitou a maximální rychlostí příjmu): systémy HATS (vysoko afinitní systém) a LATS (nízko afinitní systém).

HATS hraje dominantní úlohu při nízké dostupnosti nitrátu v rhizosféře (v rozmezí koncentrací NO_3^- od $1\mu\text{M}$ do 1 mM), realizuje příjem nitrátu proti gradientu elektrochemického potenciálu mechanismem sekundárního aktivního transportu (Forde 2000; Miller et al. 2007). Systém HATS má dvě složky: indukibilní iHATS a konstitutivní cHATS. cHATS je v kořenových buňkách exprimován i při nedostatku nitrátu (konstitutivně). iHATS je naopak indukovaný přítomností nitrátu v médiu či půdě. Oproti cHATS má menší afinitu k nitrátu, ale větší kapacitu příjmu NO_3^- . Jedná se o vícesložkový systém částečně kódovaný rodinou genů *NRT2*. U *Arabidopsis* bylo nalezeno hned sedm zástupců této rodiny genů. Všechny transportéry *NRT2* jsou v menší míře přítomny v kořenech i v nepřítomnosti nitrátu. Při dodání nitrátu však rychle dochází ke zvýšení jejich počtu. Výsledkem je zvýšená intenzita příjmu nitrátu pomocí HATS, pozorovatelná především několik hodin po vystavení kořene zdroji nitrátu. Poté dochází k prudkému poklesu rychlosti příjmu, pravděpodobně díky inhibičnímu efektu vyvolanému akumulací produktů asimilace nitrátu (viz. shrnutí Forde 2000). Zástupcem této rodiny je *NRT2.1*, který hraje roli také v regulaci iniciace PK a kóduje

velkou část systému iHATS. Exprese *AtNRT2.1* a aktivita iHATS je inhibována metabolity, např. NH_4^+ . Inhibiční efekt NH_4^+ byl popsán např. sojových bobů nebo *Arabidopsis* (Lee et al. 1992). Ze sedmi členů rodiny *NRT2* přítomných v *Arabidopsis* představuje *NRT2.1* nejdůležitější složku vysoko afinitního příjmu, což je patrné hned z několika zjištění:

- Aktivita HATS je silně potlačena v mutantech, v kterých došlo k deleci genů *NRT2.1/NRT2.2*.
- *NRT2.1* je exprimován hlavně v místech absorpce nitrátu z půdy, tedy ve vnějších buněčných vrstvách kořene.
- Exprese *NRT2.1* je shodná s aktivitou systému HATS – příjem nitrátu prostřednictvím HATS je stimulován nízkou koncentrací NO_3^- v prostředí a inhibován produkty asimilace nitrátu (NH_4^+ , některé aminokyseliny). Exprese i inhibice *NRT2.1* je zapříčiněna stejnými jevy (Little et al. 2005).

Transportní systém LATS hraje významnou roli při příjmu nitrátu, pokud je jeho koncentrace větší než 1 mM. Geny kódující nízkoafinitní přenašeče patří do rodiny genů *NRT1* (Forde 2000). U *Arabidopsis* bylo již nalezeno 53 členů této rodiny (Miller et al. 2007). Nejvýznamnější z nich je *NRT1.1*. Vyznačuje se duální afinitou, což znamená, že dokáže měnit svoje kinetické parametry (přepínat z nízko do vysoko afinitního mechanismu příjmu) a to pomocí fosforylace Thr-101 zbytku (Liu & Tsay 2003). Fosforylace tohoto zbytku je regulována vnějším zdrojem nitrátu. Pokud je Thr-101 fosforylován, pak *NRT1.1* funguje jako HATS. Defosforylovaná forma se chová jako LATS. *NRT1.1* je významný nejenom v příjmu nitrátu z prostředí, ale funguje také jako senzor přítomnosti nitrátu pro morfologickou odezvu kořenového systému. Dalším zástupcem *NRT1* rodiny je *NRT1.2* (Guo et al. 2002; Huang et al. 1999).

4.2 Morfogeneze kořenů v odpovědi na výskyt nitrátu v prostředí

4.2.1 Lokalizovaná odpověď na dostupnost nitrátu

Lokální stimulace růstu postranních kořenů na přítomnost vyšší koncentrace NO_3^- nastává v podmínkách limitované dostupnosti nitrátu, protože rostlina odpovídá změnou svého vývoje nejintenzivněji, pokud obsahu dusíku v celém jejím těle není vysoký. Mnoho rostlinných druhů reaguje na nerovnoměrnou distribuci NO_3^- a NH_4^+ proliferací PK především uvnitř zóny bohaté na dané živiny. Předpokládá se, že tato reakce je důležitá pro schopnost konkurence v soutěži o zdroje živin (Zhang et al. 1999).

V rostlinách pěstovaných v podmínkách relativního nedostatku nitrátu (0,01 mM) byl pozorován vliv lokálně zvýšené koncentrace NO_3^- (1 mM) na prodlužování PK, které bylo zapříčiněno zvýšenou meristematickou aktivitou kořenové špičky PK. Počet vynořených PK se výrazně nelišil od kontrolních variant (Zhang et al. 1999). V případě jednoděložných rostlin (např. ječmen), při lokální aplikaci nitrátu ke kořenům, byla pozorována zvýšená iniciace i elongace PK (Drew et al. 1973).

U *Arabidopsis thaliana* bylo prodlužování délky PK v místě aplikace zdroje nitrátu zaznamenáno již při 0,05 mM koncentraci NO_3^- (zbytek kořenového systému byl vystaven 0,01 mM koncentraci NH_4NO_3). Největší efekt pak vyvolala lokální koncentrace 0,1 – 10 mM, kdy došlo ke 2,5 až 3 násobné stimulaci růstu. Naopak při koncentraci 50 mM NO_3^- bylo v polovině případů pozorováno zastavení růstu ve srovnání s kontrolními rostlinami pěstovanými v 1 mM KCl. Koncentrace 50 mM NO_3^- vyvolává inhibiční efekt (Zhang et al. 1999).

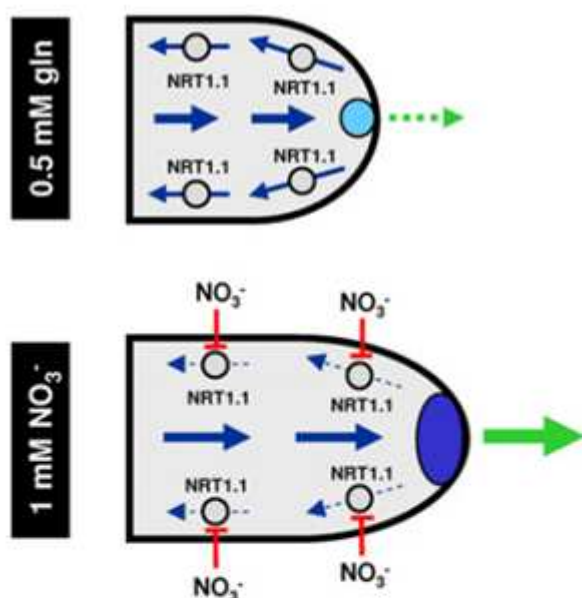
Nitrát je v tomto případě vnímán lokálně. Kořeny reagují na oblasti bohaté na nitrát lokalizovaným a přechodně zvýšeným příjmem nitrátu (Forde 2002). Signálem vyvolávající elongaci PK je samotný iont NO_3^- . Což znamená, že buňky kořenové špičky PK musí obsahovat senzory pro NO_3^- a signální cesty převádějící signál vyvolaný přítomností nitrátu na odpověď v podobě růstu PK. Předpokládá se, že senzor pro nitrát je samotný transportér NRT1.1. Dále byly identifikovány dva geny (*ANR1* a *AXR4*), které kódují možné části této signální dráhy. *AXR4* je gen citlivý vůči auxinu, proto se předpokládá propojení mezi drahami auxinu a nitrátu ovlivňující růst PK. Tuto domněnku podporuje skutečnost, že signální dráhy auxinu v kořeni *Arabidopsis*, které zahrnují proteinkinázy aktivované mitogenem (*mitogen-activated protein kinase*, dále MAPK), jsou aktivovány právě genem *AXR4*. (Forde 2002; Krouk et al. 2010b).

Gen *ANR1* je klíčový regulátor odpovědi rostliny na lokální přítomnost nitrátu (Zhang et al. 1999). Rostliny s potlačenou expresí *ANR1* mají narušenou lokální odpověď na nitrát (Zhang & Forde 1998). *ANR1* je pozitivní regulátor růstu PK. Pokud má rostlina dostatek dusíku, dochází ke snížení exprese tohoto genu, nedostatek dusíku naopak expresi stimuluje. Tato zpětná vazba umožňuje rostlině regulovat růst PK v závislosti na celkovém obsahu dusíku v rostlinném těle. Růst postranních kořenů v určité části kořenového systému totiž vždy závisí nejenom na okamžité přítomnosti externího zdroje nitrátu, ale také aktuální zásobenosti celého kořenového systému (viz. shrnutí Walch-Liu et al. 2006a) – více viz. kap. Systémová odpověď na vysokou koncentraci nitrátu.

4.2.2 Role NRT1.1

Gen *NRT1.1* je klíčovým článkem v regulaci utváření architektury kořenového systému v závislosti na přítomnosti nitrátu, protože řídí růst PK v částech půdy bohatých na NO_3^- . Větvení kořenů může tento přenašeč regulovat na základě své schopnosti kontrolovat akumulaci auxinu v kořeni. Nejnovější práce ukazují, že transportér NRT1.1 zabraňuje hromadění auxinu v ještě nevynořených primordiích PK a mladých PK, pokud je externí koncentrace nitrátu nulová nebo velmi nízká. NRT1.1, ani koncentrace NO_3^- , však neovlivňuje hromadění auxinu ve fázi iniciace primordia (Krouk et al. 2010b; Remans et al. 2006a).

Krouk (Krouk et al. 2010b) navrhnul následující model fungování přenašeče NRT1.1 (**viz**



Obr. č. 6: Schematický model kontroly růstu PK pomocí NRT1.1 v nízké/nulové koncentraci NO_3^- (0,5 mM glutamát) a vysoké koncentraci NO_3^- (1 mM NO_3^-). modré šipky - tok auxinu, zelené šipky - růst PK, modrá elipsa - akumulace auxinu (Krouk et al., 2010b)

obr. č. 6): pokud je vnější koncentrace nitrátu velmi malá, až nulová, pak NRT1.1, který sám o sobě je schopen přenášet auxin, podporuje bazipetální transport auxinu, potlačuje jeho akumulaci v kořenové špičce PK, což vede k potlačení růstu PK. Při vysoké koncentraci nitrátu (1 mM a vyšší) nastává inhibice podpory bazipetálního transportu auxinu přenašečem NRT1.1. Auxin se hromadí ve špičce postranního kořene a PK je stimulován k růstu. NRT1.1 je lokalizován v apikálních částech všech typů kořenů. Je proto v přímém kontaktu s oblastmi substrátu, kam kořen teprve proniká a může zprostředkovávat informaci o aktuální dostupnosti minerálních živin (Krouk et al. 2010b; Remans et al. 2006a).

Kromě špiček hlavních a postranních kořenů je gen *NRT1.1* exprimován v mladých listech a ve vyvíjejících se poupatech. Jeho exprese je regulována nejenom v závislosti na dostupnosti nitrátu, ale také prostřednictvím auxinu. Tato skutečnost byla prokázána při experimentech, kdy byla *Arabidopsis* vystavena vnějšímu ošetření auxinem. Zvýšené

množství auxinu v rostlině vedlo ke zvýšené expresi *NRT1.1*. Zvýšená exprese tohoto genu byla pozorována i u dvou mutantů, *yucca* a *rooty/superroot*, kteří produkují auxin v nadměrném množství (Guo et al. 2002; Walch-Liu et al. 2006a). V průběhu vývoje PK byla zvýšená exprese genu *NRT1.1* pozorována v nejčasnějších stádiích iniciace postranních kořenů, v buňkách pericyklu procházejících dělením. Tento gen je exprimován i během formování PPK a jeho vynoření z mateřského kořene (Guo et al. 2002).

Bylo pozorováno, že u mutantů defektních v *NRT1.1* genu docházelo k redukci elongace PK (Remans et al. 2006a). Tento jev nebyl způsoben nižší specifickou absorpcí NO_3^- u těchto mutantů, ale výrazně sníženou expresí *ANRI*, hlavního komponentu signalizace spouštějícího elongaci PK, který je členem MADS box rodiny transkripčních faktorů. U *NRT1.1* se předpokládá jeho přítomnost v signalizační dráze nitrátu závislé právě na *ANRI*. Tuto hypotézu potvrzuje pozorování současného výskytu *ANRI* a *NRT1.1* ve stejných tkáních (např. na špičce a bázi PK, ve vynořujícím se PK, PPK a špičce hlavního kořene) (Remans et al. 2006a). Bylo zjištěno, že *ANRI* je sice nezbytný pro stimulaci růstu PK, ale rozhodně jen on sám není pro tento proces postačující. Buď tedy dochází k postranční regulaci *ANRI* a nitrát v tomto případě je zodpovědný za převedení *ANRI* do jeho aktivní formy, nebo nitrát indukuje jinou důležitou část signální dráhy (viz. shrnutí Walch-Liu et al. 2006a). *NRT1.1* je tak zřejmě zapojen do signalizace vedoucí k lokální stimulaci elongace postranních kořenů v oblastech bohatých na nitrát. Protože u rostlin s nefunkčním *NRT1.1* nebylo pozorováno přerušení specifické absorpce NO_3^- , předpokládá se, že *NRT1.1* představuje hlavně senzor tvořící signál přenášený *ANRI* dráhou (viz. shrnutí Remans et al. 2006a; Walch-Liu et al. 2006a).

4.2.3 Systémová odpověď na vysokou koncentraci nitrátu

Rovnoměrně, po celé délce hlavního kořene, aplikovaná koncentrace NO_3^- (≥ 10 mM) vyvolává silnou inhibici růstu PK. Inhibiční efekt, na rozdíl od stimulačního efektu, působí na nevyvinuté postraní kořeny ve fázi vynoření PK z hlavního kořene tak, že potlačí aktivitu meristému v PK. Inhibiční efekt nepůsobí lokálně ale systémově, což Zhang (Zhang et al. 1999) ověřil tak, že zasadil semenáčky *Arabidopsis* do agaru rozlišeného na tři díly. Horní a dolní segment obsahoval 50 mM KNO_3 , prostřední část obsahovala 0,01 mM NH_4NO_3 a 1 mM KCl nebo 1 mM KNO_3 . Přestože ve střední části se nenacházela inhibiční koncentrace nitrátu, došlo k 70 % inhibici vývoje PK, ve srovnání s kontrolními rostlinami.

Inhibice vývoje PK je v tomto případě vratný děj. Pokud je rostlina přenesena do média obsahujícího nízkou koncentraci nitrátu, dochází k opětovnému vývoji PK, který byl vysokým obsahem NO_3^- pouze zastaven (Zhang et al. 1999; Zhang et al. 2007).

Vývojová odpověď rostlin je pravděpodobně vyvolána vysokou vnitřní koncentrací NO_3^- , nikoliv vnější zvýšenou koncentrací NO_3^- nebo produkty asimilace nitrátu. V případě mutantů defektních v enzymu nitrátreduktáze, došlo k prohloubení výše popsaného inhibičního efektu (Zhang et al. 1998). Vysoká koncentrace NO_3^- v listech ovlivňuje vývoj PK prostřednictvím signalizace na dlouhou vzdálenost v rámci rostliny. Předpokládá se zapojení auxinu, neboť auxin tvořený v nadzemní části rostliny má významný vliv na vynoření PK. U semenáčků pěstovaných nejdříve v médiu s vysokým obsahem NO_3^- (50 mM) a poté přenesených do média s nižším obsahem NO_3^- (1,0 mM) byl naměřen vyšší obsah IAA v kořeni a nižší obsah IAA v nadzemní části ve srovnání s jedinci pěstovanými pouze v substrátu s vysokým obsahem nitrátu (viz. shrnutí Walch-Liu et al. 2006a). Tento jev pozorovaný u *Arabidopsis* vede k domněnce, že vysoký obsah nitrátu může buď omezovat biosyntézu auxinu, nebo zabraňovat jeho přesunu z nadzemní části rostliny do kořenů (viz. shrnutí Walch-Liu et al. 2006a).

Podobná situace byla pozorována u sojových bobů. Rostliny pěstované v tomto případě v substrátu obsahující 8 mM nitrátu měly čtyřikrát nižší koncentraci IAA v kořenech oproti kontrolním jedincům pěstovaným v 1 mM nitrátu (Caba J. et al. 2000). Při vnější aplikaci auxinu však nedošlo k potlačení inhibičního efektu. Existuje proto také možnost, že pozorovaný efekt pozastavující vývoj PK může být nezávislý na rozdílném obsahu auxinu v rostlinném těle (Walch-Liu et al. 2006a; Zhang et al. 2007).

Důležitou součástí systémového efektu vyvolaného vnitřním poolem nitrátu je další rostlinný hormon – kyselina abscisová. Ta vyvolává změny na úrovni celého těla, pokud je rostlina vystavena vysokému obsahu NO_3^- . Souvislost mezi tímto fytohormonem a inhibičním efektem nitrátu byla pozorována na ABA deficientních mutantech (*aba1-1*, *aba2-3*, *aba2-4* a *aba3-2*). U nich byl pozorován systémový inhibiční efekt výrazně nižší. Vnější zdroj ABA způsobuje ten samý efekt jako vysoký obsah nitrátu. Zdá se, že oba jevy vyvolávající pozastavení tvorby PK, působí ve stejné fázi vývoje postranních kořenů. A to ve chvíli nastávající ihned po aktivaci meristému PK.

Inhibice vyvolaná fytohormonem ABA i vysokým obsahem nitrátu je zprostředkována stejným signálním mechanismem. Mutant *labi* (lateral root ABA-insensitive) je méně citlivý ke zvýšenému obsahu fytohormonu ABA i k vysoké koncentraci nitrátu v prostředí.

Představuje tak rostlinný model pro výzkum signálních drah systémového inhibičního jevu vyvolaného vysokým obsahem NO_3^- . U všech mutantů *labi* byl pozorován kratší hlavní kořen (Zhang et al. 2007). Při podrobném prozkoumání této skutečnosti se zjistilo, že přítomnost meristému hlavního kořene je nezbytná pro inhibici vývoje PK v přítomnosti vysokého obsahem nitrátu a fytohormonu ABA (Zhang et al. 2007).

Jistou roli v signální dráze vyvolané vysokým obsahem nitrátu a ABA hraje receptor kyseliny abscisové FCA, který je také klíčovým regulátorem kvetení u *Arabidopsis*, což se projevuje tím, že pokud dojde k mutaci FCA, pak rostlina kvete později (Zhang et al. 2007).

V systémové odpovědi na nitrát má určitou roli, která ale zatím není přesně objasněna, také gen *NRT2.1* (Remans et al. 2006b).

5 Význam dalších forem dusíku pro morfogenezi kořenového systému

5.1 Amonný kationt

Přestože amonný kationt představuje podobně jako nitrát významný zdroj dusíku pro růst rostlin, jeho morfogenní efekty jsou méně výrazné. Při vysokých koncentracích jeho výskytu (≥ 1 mM) dochází u *Arabidopsis* k inhibici růstu. Lokální ošetření 1 mM NH_4Cl růst PK nestimulovalo. K té nedošlo ani při vystavení kořenů mnohem nižší koncentraci NH_4^+ (0,1 mM). V případě *Arabidopsis* tak nedochází k žádné zásadní změně architektury kořenového systému (Zhang et al. 1999). U ječmene byl ale pozorován efekt vyvolaný NH_4^+ stimulující iniciaci a elongaci PK (Drew 1975).

5.2 Aminokyseliny

V případě aminokyselin byl prokázán silný morfogenní efekt glutamátu (Glu), zatímco u ostatních kyselin byl růst kořenového systému ovlivněn velmi málo (Forde & Walch-Liu 2009).

Přítomnost L-glutamát v prostředí velmi výrazně ovlivňuje morfologii kořenového systému. Ke změně kořenové architektury dochází i při jeho velmi nízkých koncentracích pohybujících se v rozmezí 0,05 – 0,5 mM (Filleur et al. 2005). Glu způsobuje inhibici růstu hlavního kořene, stimulaci vývoje PK hned za vrcholem mateřského kořene a inhibuje prodlužování PK. Zastavení prodlužování postranních kořenů nastává až při určité průměrné délce PK (přibližně 5-10 mm) (Walch-Liu et al. 2006b). Iniciace, ani časná stadia vývoje PK, přítomnost glutamátu neovlivňuje.

Účinek L-glutamátu na kořenový systém je komplexní a zároveň regulován na úrovni vývoje kořene. Což je patrné z toho, že PK jsou citlivé vůči této aminokyselině pouze v určité fázi svého vývoje po vynoření z mateřského kořene (Walch-Liu et al. 2006b). Rostlina ošetřená L-glutamátem tvoří tedy menší, ale více větvený kořenový systém (viz. shrnutí Walch-Liu et al. 2006a).

Inhibice růstu hlavního kořene, která byla pozorována u *Arabidopsis*, nastala pouze v přítomnosti této formy aminokyseliny. V případě, že byla rostlina vystavena stejnému množství látky velmi se podobající glutamátu – např. aspartát, glutamin nebo kyselině γ -aminomáselné či D-glutamátu, nedošlo k žádnému efektu na kořenový systém. Z dalších aminokyselin ovlivnil růst kořene pouze tryptofan. Při jeho koncentraci 50 μ M došlo k inhibici růstu hlavního kořene asi o 25% oproti kontrolním rostlinám (viz. shrnutí Walch-Liu et al. 2006a). Tryptofan představuje prekurzor IAA a tak jeho celkový efekt na kořenový systém se podobá účinkům přítomných po ošetření *Arabidopsis* právě IAA (Celenza et al. 1995; Evans et al. 1994).

K inhibici růstu hlavního kořene dochází pouze v případě, kdy je Glu aplikován k jeho vrcholu, ostatní části kořene nejsou vůči Glu citlivé. Pouze buňky ve vrcholové části kořene po vystavení Glu jsou schopné vyvolat sníženou produkci buněk (Filleur et al. 2005), (Walch-Liu et al. 2006b).

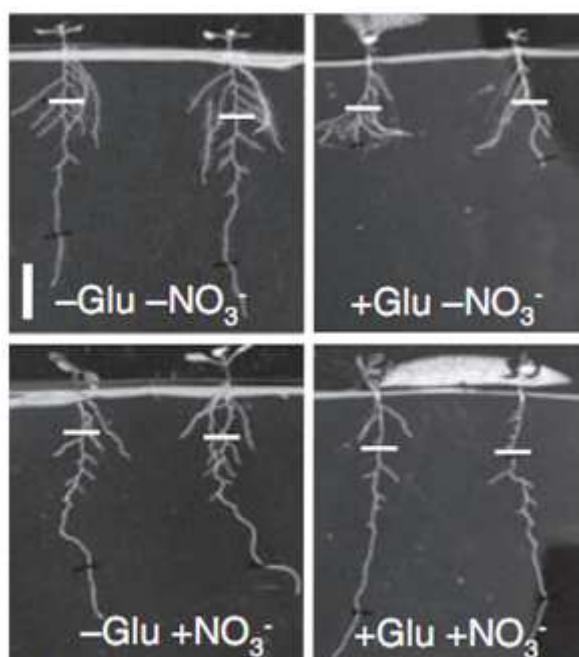
Změny kořenového systému vyvolané L-glutamátem, nebyly pozorovány pouze u *Arabidopsis*, ale také u jiných rostlinných druhů, např. u *Thlaspi caerulescens* (Filleur et al. 2005). V rámci jednoho rodu, konkrétně *Arabidopsis*, byla pozorována rozdílná citlivost vůči L-glutamátu u různých ekotypů, které se lišily v geografické poloze a typu habitatu. Inhibice růstu vyvolaná 50 μ M koncentrací L-glutamátu se pohybovala od 0 do 80%. Nicméně i nejméně citlivý ekotyp reagoval na přítomnost 1 mM L-glutamátu inhibicí růstu o 26% (Walch-Liu et al. 2006b).

Předpokládá se, že na vrcholech kořenů se nacházejí specifické senzory, pomocí nichž se zjišťuje přítomnost extracelulárního glutamátu. Totožnost těchto senzorů/receptorů glutamátu není stále zcela objasněna. Existují však kandidáti na tuto funkci v podobě genů *GLR* (Glu receptor-like gene) (Forde et al. 2009). U *Arabidopsis* je známo 20 členů této rodiny (Chiu et al. 2002). Geny *AtGLR* jsou příbuzné savčím genům *iGluR*, které představují specifické antagonisty receptorů pro glutamát u savců (Lam et al. 1998). *GLR* jsou zapojeny do mnoha fyziologických procesů v rostlinném těle (Forde et al. 2009). Ovšem role genu *GLR* v signalizačních drahách glutamátu, vyvolávajících fyziologické nebo vývojové odpovědi,

prokázána zatím nebyla. Jediné co nasvědčuje zapojení tohoto proteinu do zmíněného signalizačního mechanismu je to, že se jedná o jediný ekvivalent savčího proteinu iGluR v rostlinném těle. V tomto ohledu je zapotřebí další výzkum. Předběžná data však ukazují možnou roli genu *GLR2.5* při vnímání vysokých koncentrací glutamátu (Forde et al. 2009; Walch-Liu et al. 2006a).

6 Interakce mezi signály vyvolanými nitrátem a glutamátem

Pokud je vrchol kořene vystaven přítomnosti glutamátu, dochází k inhibici jeho růstu, jak bylo výše uvedeno. Pokud je však současně vystaven přítomnosti nitrátu, pak k inhibici růstu nedochází a kořen pokračuje normálně v růstu (**viz obr. č. 6**). Nitrát v tomto případě zmírňuje působení glutamátu (Walch-Liu & Forde 2008). Experiment byl proveden i v přítomnosti 5 mM NH_4^+ . NH_4^+ neměl žádný vliv na vnímání glutamátu kořeny a to bez ohledu na to, která část kořenového systému byla tímto kationtem ošetřena (Walch-Liu et al. 2008). Efekt zmírňující inhibiční vliv glutamátu je tak pravděpodobně vyvolán samotným NO_3^- , nikoliv



Obr. č. 7 : Efekt glutamátu na uspořádání kořenového systému v přítomnosti nitrátu (+ NO_3^-) a při jeho absenci (- NO_3^-). (Walch-Liu and Forde, 2008)

produkty asimilace nitrátu. Předpoklad, že schopnost nitrátu snížit efekt glutamátu je zapříčiněna zablokováním příjmu Glu apikální části kořene byla vyvrácena (Walch-Liu et al. 2008).

Signalizace zprostředkovaná glutamátem a nitrátem má ekofyziologické důsledky. Koncentrace Glu, které mají vliv na růst hlavního kořene, jsou srovnatelné s výskytem Glu v půdách bohatých na organické formy dusíku. Zároveň i koncentrace nitrátu vyvolávající snížení inhibice růstu glutamátem (0,5-5 mM) a stimulující přímo růst hlavního kořene (0,05-5 mM) se nachází v mnoha typech půd (Farley & Fitter 1999).

Protože NO_3^- představuje hlavní zdroj dusíku v úrodných aerobních půdách, je zásoba organického dusíku je využívána jako hlavní zdroj dusíku především v půdách chudých na živiny (Christou et al. 2005). U rostlin se tak zřejmě vyvinul mechanismu, který pozměňuje architekturu kořenového systému podle obsahu a typu

živin v půdě. Pokud v prostředí převládá nitrátová forma dusíku, pak rostlina vykazuje citlivost hlavně vůči tomuto zdroji dusíku. Se zvyšující se dostupností glutamátu tato citlivost klesá (Walch-Liu et al. 2008).

7 Morfologické změny kořenového systému v závislosti na dostupnosti fosfátu v prostředí

7.1 Význam fosforu pro rostlinu a mechanismus příjmu

Fosfor, ve formě fosfátu, je esenciální makroprvek pro všechny organismy, tedy i rostliny. Představuje strukturní prvek nukleových kyselin a fosfolipidů, které jsou součástí membrán. Dále je součástí monoesterů hrajících důležitou roli při metabolických reakcích, které vyžadují přenos energie. Skrze fosforylace a defosforylace hraje fosfát klíčovou roli v přenosu signálu (viz. shrnutí Yang & Finnegan 2010).

Fosfor představuje druhý obvykle limitující faktor ovlivňující rostlinou produktivitu. Jeho koncentrace v půdě se průměrně pohybuje kolem hodnoty $1\mu\text{M}$, málokdy přesáhne koncentraci $10\mu\text{M}$. Kořenovým systémem přijímají rostliny fosfor v jeho anorganické podobě, tedy ve formě fosfátu, který je v půdě nerovnoměrně rozmístěný a poměrně málo pohyblivý. Ve srovnání např. s nitrátem probíhá difúze fosfátu tři- až čtyřikrát pomaleji (Linkohr et al. 2002; Perez-Torres et al. 2008; Yang et al. 2010). Fosfát je navíc v půdě intenzivně sorbován a obtížně se proto uvolňuje do půdního roztoku. Tato skutečnost je dána afinitou fosfátu vůči kationtům Ca^{2+} , Mg^{2+} a Al^{3+} , interakcí s půdními koloidy a jeho schopností vázat se do organických látek, které rostlina neabsorbuje (Brady & Weil 2002; Lopez-Bucio et al. 2003).

Fosfát je přijímán aktivně symportem s H^+ pomocí H^+ -ATPázy umístěné v plasmatické membráně (Sakano 1990; Ullricheberius et al. 1981). I zde se objevuje vysoko a nízkoafinitní systém příjmu fosfátu. Fosfát přítomný v prostředí pouze v mikromolární koncentraci je přijímán pomocí vysokoafinitního systému. Pokud se koncentrace fosfátu pohybuje v řádech milimolů, pak je aktivní nízkoafinitní systém (Furiihata et al. 1992; Ullricheberius et al. 1984). Všechny pospané transportéry fosfátu vykazují stejnou strukturu v podobě dvanácti transmembránových domén (Schachtman et al. 1998; Smith et al. 2000). V genomu *Arabidopsis* bylo nalezeno hned šestnáct fosfátových transportérů funkčních v různých orgánech a tkáních (Gilroy & Jones 2000; Raghothama 1999).

V přírodě se rostliny velmi často setkávají s nedostatkem fosfátu, vyvinuly proto řadu mechanismů, jak jeho příjem zefektivnit. Jedním z těchto mechanismů je stimulace exprese genů pro vysokoafinitní fosfátové transportéry. Mezi další patří rozvoj mykorrhizy (viz. shrnutí Yang et al. 2010), uvolňování a příjem fosfátu z vnějších organických a anorganických zdrojů prostřednictvím modifikace chemických vlastností rhizosféry (např. sekrece org. kyselin nebo fosfatáz) (Gahoonia et al. 2000), optimalizace využití fosfátu v rostlině a také změny architektury kořenového systému, které vedou ke zvětšení absorpčního povrchu (Perez-Torres et al. 2008).

7.2 Změny morfogeneze kořenového systému v odpovědi na nedostatek fosforu

7.2.1 Systémová odpověď

Stejně jako v případě dusíku, i v případě fosforu lze uplatnit zjednodušený Thornleyho model o změnách poměru nadzemní části rostliny vůči kořenovému systému v závislosti na dostupnosti živin a fotosynteticky získaného uhlíku. Pokud je rostlina vystavena nedostatku fosforu, dochází k ukládání uhlíku přednostně v kořenech, což vede k alokaci biomasy ve prospěch kořenů (Cakmak et al. 1994).

Při nízké dostupnosti fosforu nastávají dramatické změny v prostorovém uspořádání kořenového systému (**obr. č. 4**). Dochází ke zvýšení hustoty kořenových vlásků, stimulaci prodlužování a zakládání PK, zároveň však dochází k inhibici růstu hlavního kořene (Bates & Lynch 1996; Fohse et al. 1991; Lopez-Bucio et al. 2002). Rostlina při nízké koncentraci fosfátu v půdě upřednostňuje růst postranních kořenů nad růstem kořene hlavního. Vzhledem k tomu, že se zvětšující se hloubkou půdy klesá přítomnost fosfátu v ní, tak redistribuce růst do postranních kořenů zlepšuje možnost příjmu fosfátu (Williamson et al. 2001).

Vzhledem k tomu, že kořenové vlásky mohou tvořit až 77 % celkového povrchu kořenové soustavy (Parker et al. 2000) představují nezanedbatelnou složku při příjmu živin, ke kterému jsou primárně určeny (Gilroy et al. 2000). Významnou roli mají kořenové vlásky při příjmu fosfátu v prostředí chudém na tuto živinu, což vyplývá z pokusů prováděných s mutantem defektním v tvorbě kořenových vlásků (*root hair defective 2* neboli *rhd2*) a normálním typem *Arabidopsis*. Při vysoké dostupnosti fosfátu v médiu se normální typ *Arabidopsis* a mutant nelišily v příjmu fosfátu ani v růstu kořenového systému. Rozdíl nastal při pěstování obou

variant v médiu s nízkým obsahem fosfátu. *Rhd2* přijímal méně fosfátu a tvořil méně biomasy oproti kontrole (Bates & Lynch 2001). Z čehož vyplývá, že kořenové vlásky udělují rostlině kompetiční výhody při růstu v prostředí chudém na fosfor (Narang & Altmann 2001), neboť rozšiřují oblast půdy, z které získávají fosfát, což vede k zvýšení jeho příjmu a celkovému zvýšení množství rostlinou přijatého fosforu (Bates et al. 2001).

V prostředí s nízkou dostupností fosfátu dochází k zastavení meristematické aktivity a ztrátě citlivosti vůči auxinu v kořenovém meristému. Výsledkem je zastavení růstu hlavního kořene (viz. shrnutí Osmont et al. 2007).

Před zastavením růstu hlavního kořene dochází ke stimulaci tvorby postraních kořenů. Předpokládá se, že nedostatek fosfátu zvýší citlivost buněk pericyklu k auxinu, což vede ke stimulaci větvení kořene. Změnu sensitivity zprostředkovává receptor auxinu, protein TIR1 (Transport inhibitor response1). V kořenech trpících nedostatkem fosfátu dochází ke zvýšené expresi *TIR1* genu, což vyvolává v buňkách pericyklu zvýšení citlivosti vůči auxinu. Souvislost mezi tvorbou PK a proteinem TIR1 byla pozorována v bazálním meristému, kde dochází k přípravě pericyklových buněk k tvorbě PK a kde byla pozorována i zmíněná zvýšená exprese genu *TIR1*. Ta vede k rychlejší degradaci represoru AUX/IAA, která umožňuje proteinu ARF19, a možná i dalším členům rodiny proteinů ARF, vázat se na AuxRes motiv, a tak aktivovat nebo potlačit geny zapojené do dráhy auxinu, které zároveň podporují dělení buněk pericyklu (Perez-Torres et al. 2008).

Určitou roli v regulaci odpovědi na dostupnost fosforu hrají také další rostlinné hormony, např. etylén. Několik genů zahrnutých do signalizační dráhy etylénu je regulováno dostupností fosfátu. Předpokládá se tak, že dochází k zapojení tohoto fytohormonu do procesů spojených s aktivitou meristému pozorovanou při deficienci fosfátu v půdě. Přesný význam etylénu není zatím přesně znám (Ortega-Martinez et al. 2007).

Signalizace na dlouho vzdálenost ustanovuje rovnováhu mezi požadavkem rostliny na fosfát a jeho zásobou v kořenovém systému. Tento druh přenosu signálu kontroluje elongaci PK, reguluje umístění zásob během vývoje listů, kvetení a obraně proti patogenům. Signály na dlouhou vzdálenost jsou vedeny floémem. Tímto způsobem se rostlinou pohybují i proteiny, cukry, organické kyseliny, fytohormony a MiRNA (Lough & Lucas 2006; Skene 2000). Všechny tyto látky představují potenciální signální molekuly. Konkrétně jsou cukry potřebné pro reakci rostliny na nedostatek fosforu v prostředí v podobě stimulace růstu PK a indukci genů reagujících na malé množství fosfátu v půdě (Karthikeyan et al. 2007). K

podrobnému pochopení role cukrů v drahách vyvolaných nízkou dostupností fosfátu je potřeba ještě další výzkum (viz. shrnutí Yang et al. 2010).

7.3 Rozdílný vliv nitrátu a fosfátu na morfologii kořenového systému:

Změny v dostupnosti nitrátu a fosfátu mají rozdílný vliv na délku hlavního kořene a hustotu PK. Na délku PK mají obě živiny efekt velmi podobný. Linkohr a kol. (Linkohr et al. 2002) totiž pozorovali prodlužování PK v zónách bohatých jak na dusík, tak na fosfor. Jakmile se PK dostali mimo lokální zdroj daných živin, došlo k potlačení jejich růstu.

Jednotlivé změny architektury kořenového systému v závislosti na přítomnosti daných živin jsou uvedeny v tabulce č. 1.

Tabulka č. 1: Srovnání vlivu lokálního zdroje nitrátu a fosfátu na kořenový systém (vytvořeno podle Linkohr et al., 2002)

typ živiny	NITRÁT	FOSFÁT
délka hlavního kořene	klesá se zvyšující se dostupností dané živiny	roste se zvyšující se dostupností dané živiny
hustota PK	konstantní, nezávisí na koncentraci dané živiny	klesá při zvýšené dostupnosti dané živiny
elongace PK při vysoké koncentraci těchto živin	potlačena	potlačena
lokální zdroj dané živiny	neovlivňuje růst hlavního kořene zvýšená hustota PK elongace PK uvnitř zóny bohaté na nitrát	redukce růstu hlavního kořene nemá vliv na hustotu PK elongace PK uvnitř zóny bohaté na fosfát

Vysoký obsahu fosfátu v prostředí má vliv na snížení hustoty PK, nikoliv ale na jejich iniciaci. V případě růstu kořenů v oblasti bohaté na nitrát dochází k stimulaci tvorby PK, opačný jev nastává v oblastech s nedostatkem nitrátu. Opačné efekty nitrátu a fosfátu nejen na hustotu PK, ale také na délku hlavního kořene, vedou k předpokladu, že existují rozdíly

v mechanismech regulujících vývoj kořenového systému v závislosti na přítomnosti jednotlivých živin. Pouze délka PK byla v případě obou sledovaných živin regulována stejným způsobem. V heterogenním prostředí je prodlužování PK silně potlačeno v místech chudých na nitrát nebo fosfát, v zónách s vysokým obsahem těchto živin nastává prodloužení délky PK ve srovnání s rostlinami, jejichž kořeny rostli v substrátu s rovnoměrně distribuovanými živinami. Tato schopnost rostlin, potlačit růst PK v méně příznivých podmínkách, se jeví jako velmi účinný způsob, jak optimálně využít nerovnoměrné rozložení zdrojů živin (Linkohr et al. 2002).

8 Závěr

Cílem této práce bylo shrnout poznatky týkající se regulace tvorby postranních kořenů v závislosti na dostupnosti nitrátu a fosfátu, jako klíčových živin ovlivňujících celkový vývoj rostliny. V posledních dvaceti letech bylo provedeno mnoho výzkumů na toto téma. Přesto role některých molekul a fytohormonů v různých signálních mechanismech není zatím zcela objasněna. Základní povědomí o tom, jak rostlina reaguje na ne/přítomnost dané živiny však máme. Rozluštění jednotlivých mechanismů, článek po článku, bude v budoucnu přínosem hlavně pro oblast zemědělské produkce. Na základě získaných poznatků bude moci dojít ke zvětšení výnosu či udržení přijatelné produkce v oblastech se sníženou úrodností půdy.

9 Použitá literatura

- Bao F. et al. (2004) Brassinosteroids Interact with Auxin to Promote Lateral Root Development in Arabidopsis. *Plant Physiology* **134**, 1624-1631.
- Bates T.R. & Lynch J.P. (1996) Stimulation of root hair elongation in Arabidopsis thaliana by low phosphorus availability. *Plant Cell and Environment* **19**, 529-538.
- Bates T.R. & Lynch J.P. (2001) Root hairs confer a competitive advantage under low phosphorus availability. *Plant and Soil* **236**, 243-250.
- Beeckman T., Burssens S., & Inze D. (2001) The peri-cell-cycle in Arabidopsis. *Journal of Experimental Botany* **52**, 403-411.
- Benkova E. & Bielach A. (2010) Lateral root organogenesis - from cell to organ. *Current Opinion in Plant Biology* **13**, 677-683.
- Benkova E. et al. (2003) Local, Efflux-Dependent Auxin Gradients as a Common Module for Plant Organ Formation. *Cell* **115**, 591-602.
- Bhalerao R.P. et al. (2002) Shoot-derived auxin is essential for early lateral root emergence in Arabidopsis seedlings. *Plant Journal* **29**, 325-332.

- Bloom A.J., Chapin F.S., & Mooney H.A. (1985) Resource Limitation in Plants - An Economic Analogy. *Annual Review of Ecology and Systematics* **16**, 363-392.
- Brady N.C. & Weil R.R. (2002) The Nature and Properties of Soil. Prentice Hall.
- Caba J. et al. (2000) Inoculation and nitrate alter phytohormone levels in soybean roots: differences between a supernodulating mutant and the wild type. *Planta* 98-104.
- Cakmak I., Hengeler C., & Marschner H. (1994) Partitioning of Shoot and Root Dry-Matter and Carbohydrates in Bean-Plants Suffering from Phosphorus, Potassium and Magnesium-Deficiency. *Journal of Experimental Botany* **45**, 1245-1250.
- Casero P.J., Casimiro I., & Knox J.P. (1998) Occurrence of cell surface arabinogalactan-protein and extensin epitopes in relation to pericycle and vascular tissue development in the root apex of four species. *Planta* **204**, 252-259.
- Casimiro I. et al. (2003) Dissecting Arabidopsis lateral root development. *Trends in Plant Science* **8**, 165-171.
- Celenza J.L., Grisafi P.L., & Fink G.R. (1995) A Pathway for Lateral Root-Formation in Arabidopsis-Thaliana. *Genes & Development* **9**, 2131-2142.
- Chiu J.C. et al. (2002) Phylogenetic and expression analysis of the glutamate-receptor-like gene family in Arabidopsis thaliana. *Molecular Biology and Evolution* **19**, 1066-1082.
- Christou M. et al. (2005) Dissolved organic nitrogen in contrasting agricultural ecosystems. *Soil Biology & Biochemistry* **37**, 1560-1563.
- De Smet I. et al. (2007) Auxin-dependent regulation of lateral root positioning in the basal meristem of Arabidopsis. *Development* **134**, 681-690.
- Deak K.I. & Malamy J. (2005) Osmotic regulation of root system architecture. *Plant Journal* **43**, 17-28.
- Dharmasiri N. & Estelle M. (2004) Auxin signaling and regulated protein degradation. *Trends in Plant Science* **9**, 302-308.
- DiDonato R.J. et al. (2004) Arabidopsis ALF4 encodes a nuclear-localized protein required for lateral root formation. *The Plant Journal* **37**, 340-353.
- Dolan L. & Roberts K. (1995) Secondary Thickening in Roots of Arabidopsis-Thaliana - Anatomy and Cell-Surface Changes. *New Phytologist* **131**, 121-128.
- Drew M.C. (1975) Comparison of Effects of A Localized Supply of Phosphate, Nitrate, Ammonium and Potassium on Growth of Seminal Root System, and Shoot, in Barley. *New Phytologist* **75**, 479-490.
- Drew M.C., Saker L.R., & Ashley T.W. (1973) Nutrient Supply and Growth of Seminal Root System in Barley .1. Effect of Nitrate Concentration on Growth of Axes and Laterals. *Journal of Experimental Botany* **24**, 1189-1202.
- Dubrovsky J.G. et al. (2001) Early primordium morphogenesis during lateral root initiation in Arabidopsis thaliana. *Planta* **214**, 30-36.
- Dubrovsky J.G. et al. (2008) Auxin acts as a local morphogenetic trigger to specify lateral root founder cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **105**, 8790-8794.
- Essau, K. Plant Anatomy. Willey, New York . 1953.

- Evans M.L., Ishikawa H., & Estelle M.A. (1994) Responses of Arabidopsis Roots to Auxin Studied with High Temporal Resolution - Comparison of Wild-Type and Auxin-Response Mutants. *Planta* **194**, 215-222.
- Farley R.A. & Fitter A.H. (1999) Temporal and spatial variation in soil resources in a deciduous woodland. *Journal of Ecology* **87**, 688-696.
- Filleur S. et al. (2005) Nitrate and glutamate sensing by plant roots. *Biochemical Society Transactions* **33**, 283-286.
- Fohse D., Claassen N., & Jungk A. (1991) Phosphorus Efficiency of Plants .2. Significance of Root Radius, Root Hairs and Cation-Anion Balance for Phosphorus Influx in 7 Plant-Species. *Plant and Soil* **132**, 261-272.
- Forde B.G. (2000) Nitrate transporters in plants: structure, function and regulation. *Biochimica et Biophysica Acta-Biomembranes* **1465**, 219-235.
- Forde B.G. (2002) Local and long-range signaling pathways regulating plant responses to nitrate. *Annual Review of Plant Biology* **53**, 203-224.
- Forde B.G. & Walch-Liu P. (2009) Nitrate and glutamate as environmental cues for behavioural responses in plant roots. *Plant Cell and Environment* **32**, 682-693.
- Friml J. (2003) Auxin transport - shaping the plant. *Current Opinion in Plant Biology* **6**, 7-12.
- Fukaki H. & Tasaka M. (2009) Hormone interactions during lateral root formation. *Plant Molecular Biology* **69**, 437-449.
- Furihata T., Suzuki M., & Sakurai H. (1992) Kinetic Characterization of 2 Phosphate-Uptake Systems with Different Affinities in Suspension-Cultured Catharanthus-Roseus Protoplasts. *Plant and Cell Physiology* **33**, 1151-1157.
- Gahoonia T.S. et al. (2000) Root-released organic acids and phosphorus uptake of two barley cultivars in laboratory and field experiments. *European Journal of Agronomy* **12**, 281-289.
- Gilroy S. & Jones D.L. (2000) Through form to function: root hair development and nutrient uptake. *Trends in Plant Science* **5**, 56-60.
- Guo F.Q., Wang R.C., & Crawford N.M. (2002) The Arabidopsis dual-affinity nitrate transporter gene AtNRT1.1 (CHL1) is regulated by auxin in both shoots and roots. *Journal of Experimental Botany* **53**, 835-844.
- Himanen K. et al. (2002) Auxin-mediated cell cycle activation during early lateral root initiation. *The Plant Cell* **14**, 2339-2351.
- Huang N.C. et al. (1999) Cloning and functional characterization of an Arabidopsis nitrate transporter gene that encodes a constitutive component of low-affinity uptake. *Plant Cell* **11**, 1381-1392.
- Ivanchenko M.G., Muday G.K., & Dubrovsky J.G. (2008) Ethylene-auxin interactions regulate lateral root initiation and emergence in Arabidopsis thaliana. *Plant Journal* **55**, 335-347.
- Karthikeyan A.S. et al. (2007) Phosphate starvation responses are mediated by sugar signaling in Arabidopsis. *Planta* **225**, 907-918.
- Krouk G. et al. (2010a) Nitrate signaling: adaptation to fluctuating environments. *Current Opinion in Plant Biology* **13**, 266-273.

- Krouk G. et al. (2010b) Nitrate-Regulated Auxin Transport by NRT1.1 Defines a Mechanism for Nutrient Sensing in Plants. *Developmental Cell* **18**, 927-937.
- Krouk G., Tillard P., & Gojon A. (2006) Regulation of the high-affinity NO₃- uptake system by NRT1.1-mediated NO₃- demand signaling in Arabidopsis. *Plant Physiology* **142**, 1075-1086.
- Kuderova A. et al. (2008) Effects of Conditional IPT-Dependent Cytokinin Overproduction on Root Architecture of Arabidopsis Seedlings. *Plant and Cell Physiology* **49**, 570-582.
- Lam H.M. et al. (1998) Glutamate-receptor genes in plants. *Nature* **396**, 125-126.
- Laplaze L. et al. (2007) Cytokinins Act Directly on Lateral Root Founder Cells to Inhibit Root Initiation. *The Plant Cell* **19**, 3889-3900.
- Laskowski M. et al. (2006) Expression Profiling of Auxin-treated Arabidopsis Roots: Toward a Molecular Analysis of Lateral Root Emergence. *Plant and Cell Physiology* **47**, 788-792.
- Lee R.B. et al. (1992) Nitrogen Assimilation and the Control of Ammonium and Nitrate Absorption by Maize Roots. *Journal of Experimental Botany* **43**, 1385-1396.
- Linkohr B.I. et al. (2002) Nitrate and phosphate availability and distribution have different effects on root system architecture of Arabidopsis. *Plant Journal* **29**, 751-760.
- Little D.Y. et al. (2005) The putative high-affinity nitrate transporter NRT2.1 represses lateral root initiation in response to nutritional cues. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **102**, 13693-13698.
- Liu K.H. & Tsay Y.F. (2003) Switching between the two action modes of the dual-affinity nitrate transporter CHL1 by phosphorylation. *Embo Journal* **22**, 1005-1013.
- Ljung K. et al. (2005) Sites and regulation of auxin biosynthesis in Arabidopsis roots. *Plant Cell* **17**, 1090-1104.
- Lopez-Bucio J., Cruz-Ramirez A., & Herrera-Estrella L. (2003) The role of nutrient availability in regulating root architecture. *Current Opinion in Plant Biology* **6**, 280-287.
- Lopez-Bucio J. et al. (2002) Phosphate availability alters architecture and causes changes in hormone sensitivity in the Arabidopsis root system. *Plant Physiology* **129**, 244-256.
- Lough T.J. & Lucas W.J. (2006) Integrative plant biology: Role of phloem long-distance macromolecular trafficking. *Annual Review of Plant Biology* **57**, 203-232.
- Malamy J.E. (2005) Intrinsic and environmental response pathways that regulate root system architecture. *Plant Cell and Environment* **28**, 67-77.
- Malamy J.E. & Benfey P.N. (1997) Organization and cell differentiation in lateral roots of Arabidopsis thaliana. *Development* **124**, 33-44.
- Malamy J.E. & Ryan K.S. (2001) Environmental regulation of lateral root initiation in Arabidopsis. *Plant Physiology* **127**, 899-909.
- Marschner, H. Mineral nutrition of higher plants. 1995. UK, Academic Press. London.
- Marschner H., Kirkby E.A., & Cakmak I. (1996) Effect of mineral nutritional status on shoot-root partitioning of photoassimilates and cycling of mineral nutrients. *Journal of Experimental Botany* **47**, 1255-1263.
- Miller A.J. et al. (2007) Nitrate transport and signalling. *Journal of Experimental Botany* **58**, 2297-2306.

- Näsholm T., Kielland K., & Ganeteg U. (2009) Uptake of organic nitrogen by plants. *New Phytologist* **182**, 31-48.
- Narang R.A. & Altmann T. (2001) Phosphate acquisition heterosis in *Arabidopsis thaliana*: a morphological and physiological analysis. *Plant and Soil* **234**, 91-97.
- Ortega-Martinez O. et al. (2007) Ethylene modulates stem cell division in the *Arabidopsis thaliana* root. *Science* **317**, 507-510.
- Osmont K.S., Sibout R., & Hardtke C.S. (2007) Hidden branches: Developments in root system architecture. *Annual Review of Plant Biology* **58**, 93-113.
- Parizot B. et al. (2008) Diarch Symmetry of the Vascular Bundle in *Arabidopsis* Root Encompasses the Pericycle and Is Reflected in Distich Lateral Root Initiation. *Plant Physiology* **146**, 140-148.
- Parker J.S. et al. (2000) Genetic interactions during root hair morphogenesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **12**, 1961-1974.
- Peret B. et al. (2009) *Arabidopsis* lateral root development: an emerging story. *Trends in Plant Science* **14**, 399-408.
- Peret B., Larrieu A., & Bennett M.J. (2009) Lateral root emergence: a difficult birth. *Journal of Experimental Botany* **60**, 3637-3643.
- Perez-Torres C.A. et al. (2008) Phosphate Availability Alters Lateral Root Development in *Arabidopsis* by Modulating Auxin Sensitivity via a Mechanism Involving the TIR1 Auxin Receptor. *Plant Cell* **20**, 3258-3272.
- Peuke A.D., Hartung W., & Jeschke W.D. (1994) The Uptake and Flow of C, N and Ions Between Roots and Shoots in *Ricinus-Communis* l.2. Grown with Low Or High Nitrate Supply. *Journal of Experimental Botany* **45**, 733-740.
- Raghothama K.G. (1999) Phosphate acquisition. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **50**, 665-693.
- Reed R.C., Brady S.R., & Muday G.K. (1998) Inhibition of auxin movement from the shoot into the root inhibits lateral root development in *arabidopsis*. *Plant Physiology* **118**, 1369-1378.
- Remans T. et al. (2006a) The *Arabidopsis* NRT1.1 transporter participates in the signaling pathway triggering root colonization of nitrate-rich patches. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **103**, 19206-19211.
- Remans T. et al. (2006b) A central role for the nitrate transporter NRT2.1 in the integrated morphological and physiological responses of the root system to nitrogen limitation in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* **140**, 909-921.
- Sakano K. (1990) Proton Phosphate Stoichiometry in Uptake of Inorganic-Phosphate by Cultured-Cells of *Catharanthus-Roseus* (L) G-Don. *Plant Physiology* **93**, 479-483.
- Schachtman D.P., Reid R.J., & Ayling S.M. (1998) Phosphorus uptake by plants: From soil to cell. *Plant Physiology* **116**, 447-453.
- Skene K.R. (2000) Pattern formation in cluster roots: Some developmental and evolutionary considerations. *Annals of Botany* **85**, 901-908.
- Smith F.W., Rae A.L., & Hawkesford M.J. (2000) Molecular mechanisms of phosphate and sulphate transport in plants. *Biochimica et Biophysica Acta-Biomembranes* **1465**, 236-245.

- Swarup K. et al. (2008) The auxin influx carrier LAX3 promotes lateral root emergence. *Nat Cell Biol* **10**, 946-954.
- Swarup R. et al. (2001) Localization of the auxin permease AUX1 suggests two functionally distinct hormone transport pathways operate in the Arabidopsis root apex. *Genes & Development* **15**, 2648-2653.
- Teale W.D., Paponov I.A., & Palme K. (2006) Auxin in action: signalling, transport and the control of plant growth and development. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **7**, 847-859.
- Thornley J.H. (1972) Balanced Quantitative Model for Root - Shoot Ratios in Vegetative Plants. *Annals of Botany* **36**, 431-&.
- Ullricheberius C.I. et al. (1981) Relationship Between Energy-Dependent Phosphate-Uptake and the Electrical Membrane-Potential in Lemna-Gibba G1. *Plant Physiology* **67**, 797-801.
- Ullricheberius C.I., Novacky A., & Vanbel A.J.E. (1984) Phosphate-Uptake in Lemna-Gibba-G1 - Energetics and Kinetics. *Planta* **161**, 46-52.
- Walch-Liu P. & Forde B.G. (2008) Nitrate signalling mediated by the NRT1.1 nitrate transporter antagonises L-glutamate-induced changes in root architecture. *Plant Journal* **54**, 820-828.
- Walch-Liu P. et al. (2006a) Nitrogen regulation of root branching. *Annals of Botany* **97**, 875-881.
- Walch-Liu P. et al. (2006b) Evidence that L-glutamate can act as an exogenous signal to modulate root growth and branching in Arabidopsis thaliana. *Plant and Cell Physiology* **47**, 1045-1057.
- Williamson L.C. et al. (2001) Phosphate availability regulates root system architecture in Arabidopsis. *Plant Physiology* **126**, 875-882.
- Yang X.J. & Finnegan P.M. (2010) Regulation of phosphate starvation responses in higher plants. *Annals of Botany* **105**, 513-526.
- Zhang H.M. & Forde B.G. (1998) An Arabidopsis MADS box gene that controls nutrient-induced changes in root architecture. *Science* **279**, 407-409.
- Zhang H.M. et al. (1999) Dual pathways for regulation of root branching by nitrate. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **96**, 6529-6534.
- Zhang H.M., Rong H.L., & Pilbeam D. (2007) Signalling mechanisms underlying the morphological responses of the root system to nitrogen in Arabidopsis thaliana. *Journal of Experimental Botany* **58**, 2329-2338.